

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/001095

International filing date: 27 January 2005 (27.01.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP  
Number: 2004-051526  
Filing date: 26 February 2004 (26.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 26 May 2005 (26.05.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

28.01.2005

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2 0 0 4 年 2 月 2 6 日

出 願 番 号  
Application Number: 特 願 2 0 0 4 - 0 5 1 5 2 6

パリ条約による外国への出願  
に用いる優先権の主張の基礎  
となる出願の国コードと出願  
番号  
The country code and number  
of your priority application,  
to be used for filing abroad  
under the Paris Convention, is

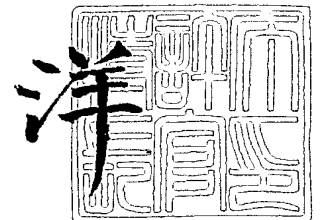
J P 2 0 0 4 - 0 5 1 5 2 6

出 願 人  
Applicant(s): 独立行政法人科学技術振興機構  
ガレニサーチ株式会社

2 0 0 5 年 5 月 1 2 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願  
【整理番号】 P-1127  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 A61K 38/27  
【発明者】  
    【住所又は居所】 京都府乙訓郡大山崎町字大山崎小字谷田 7 7 番 4 2 号  
    【氏名】 小川 泰亮  
【発明者】  
    【住所又は居所】 神奈川県大和市深見西 8 丁目 4 番 2 6 号 パストラル大和 3 0  
    7 号  
    【氏名】 宮本 陽子  
【発明者】  
    【住所又は居所】 神奈川県川崎市幸区南加瀬 4 丁目 2 7 番 1 3 号  
    【氏名】 新美 純  
【発明者】  
    【住所又は居所】 東京都江東区枝川 2 丁目 2 8 番 1 0 - 9 0 1 号  
    【氏名】 藤井 隆雄  
【特許出願人】  
    【識別番号】 503360115  
    【氏名又は名称】 独立行政法人 科学技術振興機構  
【特許出願人】  
    【識別番号】 503221632  
    【氏名又は名称】 小川 泰亮  
【特許出願人】  
    【住所又は居所】 神奈川県大和市深見西 8 丁目 4 番 2 6 号 パストラル大和 3 0  
    7 号  
    【氏名又は名称】 宮本 陽子  
【特許出願人】  
    【識別番号】 503221654  
    【氏名又は名称】 新美 純  
【特許出願人】  
    【識別番号】 503220015  
    【氏名又は名称】 藤井 隆雄  
【代理人】  
    【識別番号】 100096758  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 高橋 剛  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100114845  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 高橋 雅和  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 003414  
    【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 要約書 1

**【書類名】 特許請求の範囲****【請求項 1】**

たんぱく性薬物を含有する多孔性アパタイトまたはその誘導体を生体内消失性高分子で被覆または付着させたことを特徴とするたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

**【請求項 2】**

前記生体内消失性高分子がポリエチレングリコールとポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーであることを特徴とする請求項 1 記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

**【請求項 3】**

前記ポリエチレングリコールとポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーがポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸-ポリエチレングリコール-ポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーであることを特徴とする請求項 2 記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

**【請求項 4】**

前記ポリエチレングリコールとポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーの重量平均分子量が3,000から20,000であることを特徴とする請求項 2 記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

**【請求項 5】**

前記ポリエチレングリコールとポリ乳酸またはポリ乳酸・グリコール酸からなるブロックコポリマーのうち、ポリエチレングリコールの重量割合が20から90%であることを特徴とする請求項 2 または 3 記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

**【請求項 6】**

前記多孔性アパタイトまたはその誘導体中にたんぱく性薬物および2価金属塩を含有することを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

**【請求項 7】**

前記多孔性アパタイトまたはその誘導体中のたんぱく性薬物の含有量が5から30%であることを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

**【請求項 8】**

前記多孔性アパタイトまたはその誘導体の平均粒子径が0.5～30 $\mu$ mであることを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

**【請求項 9】**

前記多孔性アパタイトまたはその誘導体が100～600℃で処理されたことを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の徐放性微粒子製剤。

**【請求項 10】**

前記多孔性アパタイト中のカルシウムの一部が亜鉛に置換されたアパタイト誘導体であることを特徴とする請求項1記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤。

**【請求項 11】**

多孔性アパタイトまたはその誘導体の微粒子をたんぱく性薬物水溶液中に分散し、攪拌して得られた粉末を、生体内消失性高分子水溶液中または懸濁液中に分散し、攪拌の後、凍結乾燥または真空乾燥することによって粉末とすることを特徴とするたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤の製造方法。

## 【書類名】明細書

【発明の名称】たんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤およびその製造法

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、生体内で緩徐に消失する多孔性アパタイトまたはその誘導体の微粒子を基剤とするたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤およびその製造法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

たんぱく性薬物の長期間にわたる徐放性注射用製剤は、これまでポリ乳酸・グリコール酸 (PLGA) を基剤にしてその多くは検討されてきた (例えば、特許文献1、2、非特許文献1、2、3参照)。また、ヒト成長ホルモン (hGH) を含有するPLGAを基剤とした徐放性マイクロカプセルが米国において実際の治療に使用されている (例えば、非特許文献4参照)。PLGAは、生体内で加水分解して徐々に消失する生体内消失性の基剤で注射剤の基剤としては好ましい性質を有している。一般的にはPLGAを使用する徐放性製剤を製造する際には、それを溶解する有機溶媒を使用する。一方、多くのたんぱく性薬物は、水溶性であり、PLGAを用いた徐放性微粒子製剤を製造するには、有機溶媒溶液と水溶液とを使用することになる。

## 【0003】

この2つの溶媒を同時に使用するとたんぱく性薬物の一部は、変性し、失活する。このような活性の低下は、有効性を損なうのみならず生体に対しても悪い影響をもたらす危険性がある。また、水溶性のたんぱく性薬物の徐放性微粒子製剤においては、投与初期 (直後) に一過的な過剰の放出をすることは避けられない。また、ヒドロキシアパタイトを用いたヒト成長ホルモン (たんぱく性薬物) の徐放性微粒子製剤についての報告もある (例えば、非特許文献5、6参照)。しかし、いずれも2成分系であり、アパタイトの粒子径も40から80 $\mu$ mあるいは200 $\mu$ mと大きく、細い針での注射投与は困難である。さらに、in vivoにおける徐放効果は、不明である。また、アパタイト中に含有するヒト成長ホルモン量も1%以下と小さいものであった。

## 【0004】

【特許文献1】特開平10-231252 ([0005], [0006])

【特許文献2】米国特許 5656297 (1997.8.12)

【非特許文献1】O.L. Johnson et al: Nature Medicine, 2: 795-799, (1996)

【非特許文献2】M. Takenaga et al: J. Pharmacy Pharmacology, 54: 1189-1194, (2002)

【非特許文献3】S. Takada et al: J. Controlled Release, 88: 229-242, (2003)

【非特許文献4】NDA 21-075

【非特許文献5】J. Guicheux et al: J. Biomedical Materials Research, 34: 165-170, (1997)

【非特許文献6】H. Gautier et al: J. Biomedical Materials Research, 40: 606-613, (1998)

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0005】

たんぱく性薬物の注射用徐放性製剤においては、投与後、薬物の放出が終了するころに生体内から消失する生体内消失性の機能を有する素材を選定しなければならない。また、その製造に関しては、水に混和しない有機溶媒と水溶液との同時の使用は避け、たんぱく性薬物の変性を回避しなければならない。また、微粒子製剤中の薬物含有量は、すくなくとも5%以上としないと製剤の投与量が大きくなりすぎて細い注射針での投与が困難なことが生じるという問題点、さらに、多くの場合反復投与となるので、細い針を通ることが好ましく、また、徐放期間は、すくなくとも3日以上、好ましくは1週間以上にわたる微粒子製剤でなければならないし、同時に副作用の原因となり得る初期過剰放出は、極力少なく

しなければならない、という問題点があった。

#### 【0006】

そこで、本発明は、製造に際して、有機溶媒の使用を極力回避し、水非混和性の有機溶媒と水溶液との同時使用を避け、得られた製剤は、生体内消失性および徐放性機能をあわせもち、3日以上にわたり、ほぼ一定速度で含有するたんぱく性薬物を徐放し、その薬物含量も5%以上であり、分散性、通針性も良好であるたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤およびその製造方法を提供することを目的とする。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0007】

本発明者らはこれらの課題を解決するために、多孔性アパタイトまたはその誘導体の微粒子を利用することによって、生体内消失性および徐放性機能を併せ持つ製剤が水と有機溶媒とを同時に使用することなしにえられることをみいだした。さらに、たんぱく性薬物に水溶性の2価金属化合物を併用することによってたんぱく性薬物の初期過剰放出が抑制されることをみいだした。そのうえ、多孔性アパタイトにタンパク性薬物を十分に浸潤させた後、生体内消失性高分子化合物を被覆または付着させることによってより長期間にわたる徐放性がえられること、同時に初期の過剰放出をより小さくできることをもみいだした。

#### 【0008】

ここに記載のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤を構成する多孔性アパタイトおよびその誘導体とは、ヒドロキシアパタイトでも、またはその構成成分であるカルシウムの一部を亜鉛に置換した化合物でもよい。このときの亜鉛の置換率は、1~20%が好ましい。多孔性アパタイトおよびその誘導体の微粒子は、既知の方法で得ることができる。たとえば、「山口喬・柳田博明編、牧島亮男・青木秀希著：セラミックサイエンスシリーズ7 バイオセラミックス、技報堂出版（株）、7-9ページ、1984」に記載されている方法などがあげられる。ヒドロキシアパタイトを構成するカルシウム（Ca）とリン（P）の比率によって生体内での消失速度が異なり、 $(Ca+Zn)/P$ の値が1.67よりも小さいと水に溶けやすく生体内での消失速度が速くなる。 $(Ca+Zn)/P$ の値は、1.67~1.51の範囲が好ましい。また、アパタイトを製造するときの処理温度は、低い方が水に溶けやすく、消失速度も速くなる。処理温度は室温~800℃が用いられるが、150~600℃が好ましい。さらに、150~400℃がより好ましい。800℃以上で焼成されると生体内で消失されなくなる。また、100℃以下で処理すると粒子同士が凝集しやすくなり、通常の注射投与が困難となる。その粒子径は、平均値で50 $\mu$ m以下が好ましく用いられる。しかし、あまり小さいとタンパク性薬物の封入率が低下することが懸念され、0.1~50 $\mu$ mが好ましく、0.5~30 $\mu$ mがより好ましく用いられ、0.5~10 $\mu$ mがさらに好ましく使用される。

#### 【0009】

この多孔性アパタイトを被覆する生体内消失性高分子化合物には、ポリ乳酸（PLA）またはポリ乳酸・グリコール酸（PLGA）、ポリエチレングリコール（PEG）にPLAおよび/またはPLGAが結合したブロックコポリマー、コラーゲン、ポリシアノアクリル酸、ポリアミノ酸誘導体などがあるが、PLAまたはPLGAを高濃度に用いると生体内消失性高分子を被覆したアパタイト同士が凝集する、また、このときに水に混和しない有機溶媒を使用するのでこれを完全に除去しないと、最終工程で凍結乾燥をするときに水を加えるためにたんぱく性薬物の変性が生じる可能性がある。そこで、種々検討の結果、PEGにPLAまたはPLGAが結合したブロックコポリマーが好ましいと結論された。この結合様式はPEGの両末端の水酸基にPLAまたはPLGAがエステル結合した化合物でもよく、PEGの片末端にエステル結合した化合物でもよい。片末端エステルの場合、他の末端は、OCH<sub>3</sub>、アルコキシ基などで保護されていることが好ましいがアミノ基、カルボキシル基などの官能基が結合されていてもよい。PEGとPLAまたはPLGAの比率は、PEGが重量比で20~90%が好ましく、25~65%がより好ましい。ブロックコポリマーの分子量は、全体で3,000~20,000が好ましく、5,000~12,000がより好ましい。生体内消失性高分子の使用量は、アパタイト誘導体の3~100重量%の範囲で使用されるが好ましくは5~30%の範囲で用いられる。

## 【0010】

水溶性2価金属化合物としては、塩化亜鉛、酢酸亜鉛、炭酸亜鉛、塩化カルシウム、水酸化カルシウム、塩化鉄、水酸化鉄、塩化コバルトなどが挙げられる。なかでも塩化亜鉛が好ましく用いられる。塩化亜鉛に加えて、炭酸ナトリウムまたは炭酸水素ナトリウムなどを併用してもよい。その使用量は、内封されるたんぱく性薬物によって異なるが、一般的には多孔性アパタイトの2~100重量%の範囲が好ましく用いられる。さらに好ましい範囲は、2~30%である。

## 【0011】

たんぱく性薬物としては、その分子量が5,000以上の化合物に適用される。たとえば、ヒト成長ホルモン、肝細胞成長因子(HGF)、繊維芽細胞成長因子(FGF)、IGF-1、EGF、NK4、VEGF、NGF、BDNF、BMP、アディポネクチン、インターフェロン類(INF- $\alpha$ )、インターロイキン類(IL-2, IL-4, IL-5など)、EPO, G-CSF、インスリン、ANP、TNF- $\alpha$ 、抗体などがあげられる。その使用量は、たんぱく性薬物および徐放期間によって異なるが、多孔性アパタイトへの封入量は、多いほど好ましい。多孔性アパタイト内へ安定に封入される量は、アパタイトの5~50%が一般的である。

## 【0012】

本発明のたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤の製造方法は、一般的には次のような操作からなる。多孔性アパタイトまたはその誘導体の微粒子をたんぱく性薬物水溶液中に分散し、攪拌して水溶液を該アパタイト中に十分に浸潤させる。その後、遠心分離などにより浸潤しきれない水溶液を取り除く、さらに必要であれば、水溶性2価金属化合物水溶液を加え、攪拌し、水溶液を浸潤させる。その後、濾過、真空乾燥または凍結乾燥してたんぱく性薬物含有の粉末を得る。この粉末を、生体内消失性高分子の水溶液または懸濁液、または水混和性溶媒(たとえばアセトン、エタノールなど)を含む生体内消失性高分子水溶液中または懸濁液中に分散し、攪拌の後、必要に応じて安定化剤などを加えて凍結乾燥または真空乾燥することによって粉末として製造する。実際に投与するときには、この粉末を適当な分散媒中に分散させて皮下または筋肉内などに注射投与する。最終的に得られた徐放性微粒子製剤の粒子径は、通常の投与に用いられる注射針を通過すればよい。実際には、注射針の径は細いほど患者に対する恐怖心は小さい。注射針の太さをあらかず国際基準で25G以下の太さの針を通過することがより好ましい。これらを満足する徐放性微粒子製剤の粒子径は、0.5~50 $\mu$ mである。また、たんぱく性薬物の徐放期間は、薬物の活性などによって異なるが、一般的には1週間以上の徐放が好ましい。

## 【発明の効果】

## 【0013】

本発明により得られた微粒子製剤は、たんぱく性薬物を少なくとも3日以上にわたり徐放し、初期の過剰放出は、非常に小さく、たんぱく性薬物含量も最大30%にも達する微粒子製剤が得られることをみいだした。また、得られた製剤は25Gの注射針を通過した。また、最終的には凍結乾燥することで粉末化した微粒子製剤に調製でき、内封されたたんぱく性薬物も非常に安定している。

## 【実施例】

## 【0014】

以下に実施例によってその徐放性および生体内消失性を示すが、この例に限定されるものではない。

## 【0015】

## (実施例1)

焼成温度の異なる2種類の亜鉛置換ヒドロキシアパタイト(平均粒子径8 $\mu$ m)を用いて生体内消失の確認試験を行った。SD系雄性ラット(6週齢)を1群5匹用いた。180℃処理品と400℃処理品をそれぞれ懸濁液(0.1%Tween80, 0.5%CMC-Na, 5%マンニトール水溶液)に分散させ、1匹あたり0.2mlの容量でヒドロキシアパタイト5mgずつを背部中央皮下の左右に投与した。投与後(3時間, 1, 5, 10, 15, 20日)経時的に投与部位の残存物を摘出し、その湿重量とカルシウム量を測定した(表-1, 2)。投与後1から

5日まで膨潤等により湿重量は2倍近く増加したが、カルシウム量若干の増加にとどまった。その後急速に湿重量、カルシウム量ともに消失が進み180℃処理品では約15日、400℃処理品でも20日後にはほぼ消失した。

## 【0016】

表-1 抽出ヒドロキシアパタイト湿重量 (mg)

	3時間	1日	5日	10日	15日	20日
180℃処理品 (n=5)	14.2	27.1	28.0	17.0	2.3	0.0
400℃処理品 (n=5)	14.0	23.9	29.1	23.2	10.8	0.0

## 【0017】

表-2 抽出ヒドロキシアパタイト残存カルシウム量 (mg)

	3時間	1日	5日	10日	15日	20日
180℃処理品 (n=5)	1.27	1.53	1.45	0.26	0.01	0.00
400℃処理品 (n=5)	1.33	1.62	1.91	0.48	0.20	0.00

## 【0018】

(実施例2)

400℃で処理したヒドロキシアパタイト (HAp) 中のカルシウムの5%を亜鉛に置換した誘導体 (HAp-Zn-0.5; カルシウム9.5molに対して亜鉛が0.5mol) 100mgにPD-10カラム (amers ham pharmacia) を用いて脱塩処理したhGH溶液 (50mg/mL) を700 $\mu$ L添加した後、水を添加し最終液量を5mLとした。3分攪拌した後、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行った。得られた沈殿に水10mLを添加し、1分間攪拌した。再度、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿に20.4mg/mL塩化亜鉛 (和光純薬, 大阪) 水溶液2.0mL (塩化亜鉛300mmol) を加え、タッチミキサーで攪拌した後、凍結乾燥を行った。PLA-PEG-PLA-Y004 (PEG比率32%、分子量8,200) を20%の濃度となるようにアセトンに溶解し、そのアセトン溶液と水を1:4の割合で混合し、ポリマー含有アセトン・水混和液を作製した。得られた凍結乾燥粉末に、このポリマー含有アセトン・水混和液を500 $\mu$ L添加し、タッチミキサーでよく攪拌した後、凍結乾燥を行った。コントロールとしてポリマー溶液処理を行わない製剤も作製した。得られた製剤中のhGH含量は、micro BCA protein assay kit (Pierce) により定量した。

## 【0019】

得られたhGH微粒子製剤サンプルのin vitroにおける放出性を比較した。得られたhGH微粒子製剤サンプルを2.5mg精秤し、これにPBS (生理的食塩リン酸緩衝液) を0.250mL添加し、37℃で攪拌した。3000rpm 3min遠心処理によって経時的に上清を回収し、ゲル濾過HPLC解析 (TOSO G2000SW-xl) により上清中に放出されたhGH量を定量した。この結果を表3に示す。コントロールとして作製したポリマー溶液処理を行わなかった製剤に比べて、ポリマー溶液処理を行った製剤の方が、PBS中へのhGHの放出が抑制された。

## 【0020】

表3 hGH微粒子製剤の in vitro における放出性に及ぼす  
ポリマー溶液処理の影響

ポリマー溶液処理	累積放出hGH量( $\mu$ g)				
	2hr	4hr	24hr	4day	7day
無し (n=2)	0.8	2.3	6.3	7.8	9.6
有り (n=2)	1.5	2.6	2.6	2.6	2.9

## 【0021】

(実施例3)

400℃で処理したHAp-Zn-0.5 100mgにPD-10カラム(amersham pharmacia)を用いて脱塩処理したhGH溶液(50mg/mL)を700 $\mu$ L添加した後、タッチミキサーで1分間攪拌した。次に、水を最終液量が5mLとなるようにそれぞれ添加しさらに1分間タッチミキサーで攪拌した。3分間静置させた後、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿に水5mLを添加し、再度1分間攪拌した。再度、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿に20.4 mg/mL塩化亜鉛(和光純薬, 大阪)水溶液2.7mL(塩化亜鉛400mmol)を加え、タッチミキサーで攪拌した後、凍結乾燥を行った。PLA-PEG-PLA-Y001(PEG比率65.4%、分子量14,600)を20%の濃度となるようにアセトンに溶解し、そのアセトン溶液と水を1:4の割合で混合し、ポリマー含有アセトン・水混和液を作製した。得られた凍結乾燥粉末に、このポリマー含有アセトン・水混和液を500 $\mu$ L添加し、タッチミキサーでよく攪拌した後、凍結乾燥を行った。コントロールとしてポリマー溶液処理を行わない製剤も作製した。得られたhGH微粒子製剤中のhGH含量は、micro BCA protein assay kit (Pierce)により定量した。

## 【0022】

作製したhGH微粒子製剤を0.5%CMC-Na, 5%mannitol, 0.1% Tween 80で懸濁し、雄性SD系ラットの背部皮下に10IU/kg (1IU: 0.35mg)で投与した。

投与後、1,2,4,8時間経過時、以後1日毎に尾静脈より採血を行い、hGHの血中濃度を全自動EIA装置AIA-6000(東ソー株式会社)及びEテスト「TOSOH」II(HGH)を用いて測定した。この結果を表4に示す。ポリマー溶液処理を行った製剤では、ポリマー溶液処理を行わない製剤よりも、より高い血中濃度を長期間持続した。

## 【0023】

表4 hGH微粒子製剤の in vivo における徐放効果

ポリマー溶液処理	hGH含量(%)	hGH血中濃度(ng/mL)							
		4hr	8hr	1day	2day	3day	4day	5day	6day
無し (n=2)	16.2	26.4	49.1	11.8	2.8	1.3	0.78	0.43	0.32
有り (n=2)	11.2	42.6	65.4	21.6	9.7	4.4	2.2	1.4	0.49

## 【0024】

(実施例4)

400℃で処理したHAp-Zn-0.5 100mgにPD-10カラム(amersham pharmacia)を用いて脱塩処理したhGH溶液(50mg/mL)を700 $\mu$ L添加した後、水を添加し最終液量を5mLとした。3分間攪拌した後、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行った。得られた沈殿に水10mLを添加し、1分間攪拌した。再度、3,000 rpm 3分間の遠心処理を行い、得られた沈殿に20.4mg/mL塩化亜鉛(和光純薬, 大阪)水溶液2.0mL(塩化亜鉛300mmol)を加え、タッチミキサーで攪拌した後、凍結乾燥を行った。PLA-PEG-PLA-Y004(PEG比率32%、分子量8,200)を20%の濃度とな

るようにアセトンに溶解し、そのアセトン溶液と水を1:4の割合で混合し、ポリマー含有アセトン・水混和液を作製した。得られた凍結乾燥粉末に、このポリマー含有アセトン・水混和液を500 $\mu$ L添加し、タッチミキサーでよく攪拌した後、凍結乾燥を行った。得られたhGH微粒子製剤中のhGH含量は、micro BCA protein assay kit (Pierce)により定量した。

#### 【0025】

作製したhGH微粒子製剤を0.5%CMC-Na, 5%mannitol, 0.1% Tween 80で懸濁し、タクロリムス（藤沢薬品工業、大阪）により免疫抑制を施した雄性SD系ラットの背部皮下に30IU/kg (1IU: 0.35mg)で投与した。なお、タクロリムスの投与は、あらかじめ製剤投与3日前に0.4mg/ラット、製剤投与開始後は3日おきに0.2mg/ラットの投与量で背部皮下に行った。製剤投与後、1, 2, 4, 8時間経過時、以後1又は2日毎に尾静脈より採血を行い、hGHの血中濃度を全自動EIA装置AIA-6000（東ソー株式会社）及びEテスト「TOSOH」 II (HGH)を用いて測定した。この結果を表5に示す。ポリマー溶液処理を行ったhGH微粒子製剤では、約2週間にわたる徐放が認められた。

#### 【0026】

表5 hGH微粒子製剤(hGH含量14.3%)のin vivoにおける徐放効果

投与後の経過時間	4hr	8hr	12hr	16hr	1day	2day	3day	4day	5day
hGH血中濃度(ng/mL)	4.6	31.6	99.9	101.3	95.7	29.9	11.4	8.5	5.8

6day	7day	8day	9day	10day	11day	12day	14day
4.2	3.4	2.6	2.0	1.8	1.6	1.9	1.3

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 製造に際して、有機溶媒の使用を極力回避し、水非混和性の有機溶媒と水溶液との同時使用を避け、得られた製剤は、生体内消失性および徐放性機能をあわせもち、3 日以上にわたり、ほぼ一定速度で含有するたんぱく性薬物を徐放し、その薬物含量も5%以上であり、分散性、通針性も良好であるたんぱく性薬物の注射用徐放性微粒子製剤およびその製造方法を提供すること。

【解決手段】 たんぱく性薬物を含有する多孔性アパタイトまたはその誘導体を生体内消失性高分子で被覆または付着させたこと、からなる。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2004-051526
受付番号	50400313303
書類名	特許願
担当官	第五担当上席 0094
作成日	平成16年 3月 5日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成16年 2月26日

【書類名】 出願人名義変更届  
【あて先】 特許庁長官殿  
【事件の表示】  
    【出願番号】 特願2004- 51526  
【承継人】  
    【識別番号】 304062317  
    【氏名又は名称】 ガレニサーチ株式会社  
【承継人代理人】  
    【識別番号】 100096758  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 高橋 剛  
【承継人代理人】  
    【識別番号】 100114845  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 高橋 雅和  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 003414  
    【納付金額】 4,200円  
【提出物件の目録】  
    【包括委任状番号】 0417797

## 認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2004-051526
受付番号	50500087821
書類名	出願人名義変更届
担当官	鈴木 夏生 6890
作成日	平成17年 4月11日

## &lt;認定情報・付加情報&gt;

【提出日】	平成17年 1月19日
【承継人】	
【識別番号】	304062317
【住所又は居所】	神奈川県川崎市川崎区南渡田町1番21号
【氏名又は名称】	ガレニサーチ株式会社
【承継人代理人】	申請人
【識別番号】	100096758
【住所又は居所】	東京都中央区日本橋3丁目6番10号 マスキチビル3階
【氏名又は名称】	高橋 剛
【承継人代理人】	
【識別番号】	100114845
【住所又は居所】	東京都中央区日本橋3丁目6番10号 マスキチビル3階
【氏名又は名称】	高橋 雅和

特願 2004-051526

出願人履歴情報

識別番号 [503360115]

1. 変更年月日 2003年10月 1日  
[変更理由] 新規登録  
住 所 埼玉県川口市本町4丁目1番8号  
氏 名 独立行政法人 科学技術振興機構
2. 変更年月日 2004年 4月 1日  
[変更理由] 名称変更  
住 所 埼玉県川口市本町4丁目1番8号  
氏 名 独立行政法人科学技術振興機構

特願 2 0 0 4 - 0 5 1 5 2 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 5 0 3 2 2 1 6 3 2 ]

1. 変更年月日

2 0 0 3 年 6 月 1 8 日

[変更理由]

新規登録

住 所

京都府乙訓郡大山崎町字大山崎小字谷田 7 7 番 4 2 号

氏 名

小川 泰亮

特願 2004-051526

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [503221654]

1. 変更年月日	2003年 6月18日
[変更理由]	新規登録
住 所	神奈川県川崎市幸区南加瀬4丁目27番13号
氏 名	新美 純

特願 2 0 0 4 - 0 5 1 5 2 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 5 0 3 2 2 0 0 1 5 ]

1. 変更年月日 2 0 0 3 年 6 月 1 8 日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都江東区枝川 2 丁目 2 8 番 1 0 - 9 0 1 号

氏 名 藤井 隆雄

特願 2 0 0 4 - 0 5 1 5 2 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [ 5 0 4 0 7 5 5 3 3 ]

1. 変更年月日 2 0 0 4 年 2 月 2 6 日

[変更理由] 新規登録

住 所 神奈川県大和市深見西 8 丁目 4 番 2 6 号 パストラル大和 3  
0 7 号

氏 名 宮本 陽子

特願 2 0 0 4 - 0 5 1 5 2 6

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 3 0 4 0 6 2 3 1 7 ]

1. 変更年月日

2 0 0 4 年 1 2 月 6 日

[変更理由]

新規登録

住 所

神奈川県川崎市川崎区南渡田町 1 番 2 1 号

氏 名

ガレニサーチ株式会社